

Bul. Agron. (35) (2) 88 – 95 (2007)

Pola Topografi Pewarnaan Tetrazolium sebagai Tolok Ukur Viabilitas dan Vigor Benih Kedelai (*Glycine max* L.Merr.) untuk Pendugaan Pertumbuhan Tanaman di Lapangan

Topographical Tetrazolium Pattern for Evaluating Viability and Vigor of Soybean Seeds (*Glycine max* L.Merr) to Estimate Field Stand

Dina^{1*}, Eny Widajati², Baran Wirawan² dan Satriyas Ilyas²

Diterima 3 Oktober 2006/Disetujui 22 Februari 2007

ABSTRACT

Topographical tetrazolium (TZ) pattern to determine viability, vigor and field stand on soybean seeds cv. Burangrang was studied. Laboratory test for standard germination, vigor index, speed of germination, accelerated aging, seedling growth rate and field performances were performed on five lots (A,B,C,D,E) of soybean seeds. The viability and vigor categories of each pattern were determined by Root Mean Square (RMS), regression, and correlation analysis. Ten topographical patterns were recognized. The laboratory test results and field performances were compared with topographical pattern. Combination of patterns 1,2,3,4 (embryonic axis and cotyledon completely and/or gradually stained) selected as viable category as it gave the least RMS value, the highest determination (R^2) and correlation (r) coefficient with standard germination ($RMS=6,46$; $R^2=0,37$; $r=0,61$). Combination of patterns 1,2,3 (embryonic axis and cotyledon completely stained) selected as vigor category as it gave the least RMS value, the highest R^2 and r with relative speed of germination ($RMS=7,96$; $R^2=0,44$; $r=0,66$), vigor index ($RMS=6,66$; $R^2=0,36$; $r=0,6$), field emergence ($R^2=0,79$; $r=0,89$) and field stand ($R^2=0,65$; $r=0,80$). The combination of patterns 1,2,3 is recommended for estimating field emergence and field stand.

Key words : Tetrazolium, topographical pattern, viability, vigor, accelerated aging, field stand, soybean seed.

PENDAHULUAN

Uji tetrazolium (TZ) banyak digunakan untuk pengujian viabilitas benih karena waktu yang diperlukan lebih cepat (dalam hitungan jam) dibandingkan pengujian daya berkecambah (dalam hitungan hari). Dalam uji TZ digunakan larutan 2,3,5-trifenil tetrazolium klorida yang tidak berwarna. Senyawa tersebut diimbibisi oleh benih dan di dalam jaringan benih yang hidup akan bereaksi dengan proses reduksi dalam respirasi. Aktivitas enzim dehidrogenase akan melepaskan ion H^+ dan bereaksi dengan larutan TZ membentuk endapan formazan yang berwarna merah, stabil dan tidak larut air. Letak dan ukuran daerah yang terwarnai serta intensitas pewarnaan (disebut pola topografi) menentukan klasifikasi benih *viable* atau *non-viable* (ISTA, 2004). Pengamatan pola topografi dilakukan pada struktur esensial embrio yaitu plumula, radikula dan kotiledon. Di Indonesia data hasil uji TZ belum umum digunakan sebagai data yang tercantum pada label benih, tetapi dalam sertifikat benih Internasional yang dikeluarkan oleh ISTA (*International Seed Testing Association*), hasil uji TZ dapat digunakan.

Bradford (2004) menyatakan bahwa pengujian TZ dapat digunakan untuk uji vigor dengan penambahan kriteria dalam penilaian uji viabilitas. Suatu kriteria dapat tidak penting pada viabilitas tetapi menjadi penting dalam vigor. Uji TZ dapat mendeteksi kerusakan paling dini pada embrio dan menunjukkan deteriorasi benih yang merupakan indikator vigor (McDonald 1998). Menurut survei tahun 1976, 1982 dan 1990, uji TZ akan menjadi metode yang paling banyak digunakan untuk uji vigor (Leist 2004). Sebagai uji vigor, uji TZ harus berkorelasi dengan pertumbuhan tanaman.

Tujuan penelitian ini adalah membuat klasifikasi pola topografi pewarnaan hasil uji TZ untuk menentukan viabilitas dan vigor benih yang dapat digunakan untuk menduga pertumbuhan tanaman di lapang.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada Agustus 2005 hingga Juni 2006 di laboratorium dan lahan percobaan Balai Pengembangan Mutu Benih Tanaman Pangan dan

¹ Pengawas Benih Tanaman di BPMBTPH, e-mail : dien75@telkom.net (*Penulis untuk korespondensi)

² Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB

Hortikultura (BPMBTPH)-Departemen Pertanian di Cimanggis, Depok, Jawa Barat.

Sumber Benih Kedelai dan Mutu Benih pada Awal Penelitian

Secara keseluruhan digunakan lima lot (kelompok) benih kedelai cv. Burangrang dalam dua tahap penelitian. Pada tahap pertama digunakan tiga lot benih yang berasal dari Balai Penelitian dan Pengembangan Biologi dan Sumberdaya Genetik (Balitbiogen), Bogor. Tiga lot tersebut berasal dari tiga musim panen yaitu 15 September 2004 (Lot A), 26 Januari 2005 (Lot B) dan 26 Mei 2005 (Lot C). Benih dikemas dengan kertas semen, disimpan pada ruangan dengan RH 40-50% dan suhu 20°C. Hasil uji mutu benih menunjukkan nilai kadar air, berat 1000 butir dan daya berkecambah berturut-turut lot A adalah 10.1%, 143.62 g dan 85%, lot B 7.4%, 123.88 g dan 75% dan lot C 7.9%, 128.45 g dan 81% (pengujian pada September 2005).

Pada tahap ke dua digunakan dua lot benih yang berbeda dengan tahap pertama (lot D dan E). Hal ini bertujuan untuk menguji konsistensi hasil penelitian tahap pertama dan menilai korelasinya dengan pertumbuhan di lahan terbuka. Lot D berasal dari Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang yang dipanen pada 14 Juli 2004, dikemas plastik polietilen dan disimpan pada suhu ruang. Lot E berasal dari Balitbiogen yang dipanen pada 5 Nopember 2005 dengan kondisi simpan sama seperti lot A, B dan C. Hasil uji mutu benih awal pada lot D dan E menunjukkan berturut-turut nilai kadar air 7.2 dan 9.0%, berat 1000 butir 122,76 dan 143,38 g dan daya berkecambah 70 dan 90% (pengujian pada Januari – Februari 2006).

Pengujian Viabilitas dan Vigor Benih

Pengujian viabilitas dan vigor benih di laboratorium menggunakan tolok ukur daya berkecambah (DB), kecepatan tumbuh relatif (K_{CT} relatif), indeks vigor (IV), laju pertumbuhan kecambah (LPK), *accelerated ageing* (AA) dan uji TZ. Uji DB dilakukan dengan uji antar kertas (*between paper*) menggunakan kertas filter, di germinator elektrik pada suhu 25°C. Pengamatan dan penghitungan kecambah normal dilakukan pada hari ke-5 dan ke-8 (ISTA, 2004). Uji AA dilakukan dengan mengecambahkan benih yang telah didera pada suhu 41°C dan RH tinggi (95%) selama 72 jam (ISTA 2004). Nilai IV adalah persentase kecambah normal pada hitungan pertama dalam pengujian DB (Copeland and McDonald, 1995). Dalam uji K_{CT} relatif penghitungan kecambah normal dilakukan setiap hari hingga hari ke-8. Nilai K_{CT} relatif (%) dihitung sebagai $\%N/etmal$ dibagi K_{CT} maksimal. Uji LPK (mg/kecambah normal) dilakukan dengan mengeringkan kecambah normal hasil uji DB tanpa kotiledon pada 80°C selama 24 jam (Copeland and

McDonald, 1995). Pada pengujian TZ, benih dilembapkan dalam kertas basah selama 18 jam pada 20°C. Selanjutnya benih direndam dalam larutan tetrazolium klorida 1% dalam buffer fosfat selama 6 jam, 30°C pada kondisi gelap (ISTA, 2003). Pengamatan dilakukan dengan mengelompokkan benih sesuai dengan pola topografi pewarnaan yang terbentuk. Dihitung persentase jumlah benih dalam tiap pola. Pengujian-pengujian tersebut menggunakan 50 benih dengan delapan ulangan.

Pengujian Performa Tanaman

Tujuan percobaan ini adalah menguji kesesuaian pola topografi untuk tolok ukur viabilitas dan vigor dengan pertumbuhan bibit. Penanaman pertama dilakukan pada September-Desember 2005 di *polybag* untuk lot benih A,B dan C. Penanaman kedua dilakukan pada Pebruari-Mei 2006 di lahan terbuka untuk lot D dan E.

Polybag diletakkan di bawah naungan plastik, sehingga tanaman tidak terpapar hujan. Sebelum digunakan tanah dicampur pupuk kandang (dosis 10 ton/ha) dan $CaCO_3$ (dosis 2 ton/ha). Setiap *polybag* diisi 5 kg campuran tersebut. Pemberian pupuk menggunakan dosis 30 kg N/ha, 100 kg P_2O_5 /ha dan 30 kg K_2O /ha dilakukan sehari setelah tanam. Benih ditanam dengan kedalaman 3-5 cm, satu benih di tiap *polybag*. Selama pengujian tidak dilakukan penyulaman. Perlakuan yang diberikan pada saat penanaman di lahan terbuka sama dengan di *polybag*.

Pengamatan dilakukan pada daya tumbuh (DT) hari ke-7 dan ke-14, tinggi tanaman minggu ke-2, ke-3 dan ke-4, persentase tanaman hidup hingga panen (DT Total), bobot brangkas, bobot dan jumlah polong per tanaman dan berat benih yang dihasilkan. Persentase DT dihitung berdasarkan jumlah kecambah dengan satu atau dua daun trifoliat telah muncul dan terbuka di atas permukaan tanah.

Rancangan Percobaan

Untuk pengujian di laboratorium, digunakan Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor yaitu lot benih yang terdiri dari tiga taraf umur simpan. Pengujian di *polybag* dan lahan terbuka menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan faktor yang sama seperti di laboratorium. Setelah dianalisis sidik ragam dilakukan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada 5%.

Penentuan pola topografi pewarnaan TZ untuk tolok ukur viabilitas benih didasarkan pada perhitungan nilai *Root Mean Square* (RMS) antara hasil uji DB dan hasil uji TZ (Kuo *et al.* 1996 & Pant *et al.* 1999), dimana G adalah persentase hasil uji DB, P adalah persentase hasil uji TZ dalam suatu pola atau kombinasi beberapa pola dan n adalah jumlah lot (dalam penelitian n=3). Nilai G dan P merupakan rata-rata dari delapan

ulangan. Dengan cara yang sama dilakukan penentuan pola topografi pewarnaan TZ untuk tolok ukur vigor, dengan nilai G adalah persentase AA, IV atau K_{CT} relatif dan P adalah persentase hasil uji TZ dalam suatu pola atau kombinasinya. Tiga pola topografi dengan nilai RMS terkecil diuji lanjut dengan analisis regresi dan korelasi untuk menentukan pola yang paling sesuai sebagai tolok ukur viabilitas dan vigor benih. Khusus untuk LPK tidak dilakukan perhitungan RMS karena mempunyai satuan yang berbeda dengan uji TZ, sehingga langsung dilakukan analisis regresi dan korelasi setelah ditransformasi ke nilai Z baku.

$$RMS = \left\{ \frac{(G_1 - P_1)^2 + (G_2 - P_2)^2 + \dots + (G_n - P_n)^2}{n} \right\}$$

Hasil yang diperoleh dari pengujian lot A,B dan C digunakan sebagai acuan pada pengujian lot D dan E.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola Topografi Pewarnaan TZ untuk Tolok Ukur Viabilitas Benih Kedelai

Penelitian ini menghasilkan 10 pola topografi dan pewarnaan TZ (Tabel 1). Pola diurutkan berdasarkan kemungkinan pola tersebut menjadi pola *viable*. Pola 1 yaitu seluruh bagian poros embrio dan kotiledon berwarna merah cerah merata adalah pola yang dipastikan *viable*. Pola 9 dan pola 10 adalah pola yang dipastikan *non-viable* berdasarkan lokasi terjadinya pewarnaan di kotiledon dan poros embrio. Pola 9 yaitu bagian kotiledon yang berdekatan dengan poros embrio berwarna putih dan bagian radikula yang menempel di kotiledon berwarna merah tua. Pada pola 10 seluruh bagian benih tidak terwarnai merupakan benih mati. Pola 9 dan 10 sudah dipastikan dalam kelompok *non-viable*, sehingga yang dicari nilai RMS-nya adalah pola 1 – 8.

Tabel 1. Sepuluh pola topografi pewarnaan tetrazolium yang diperoleh

Pola	Topografi pada Poros Embrio	Topografi pada Kotiledon
1	merah cerah	merah cerah
2	merah dengan ujung merah tua	merah
3	merah cerah dengan ujung merah tua	merah cerah
4	merah cerah	gradasi merah –merah muda
5	merah cerah	pelukaan merah tua lunak
6	merah	pelukaan kuning lunak
7	merah	penempelan radikula di kotiledon merah tua
8	merah	merah tua
9	merah	penempelan radikula di kotiledon merah tua dan bagian dekat radikula tidak terwarnai
10	tidak terwarnai	tidak terwarnai

Pola 1 dan 2 merupakan pola mayoritas yang ditemukan pada tiap lot yang diuji yaitu 85%, 77% dan 67% berturut-turut pada lot A, B dan C, pola 6 dan 5 berjumlah antara 4-8% dan pola 3, 4, 7, 8 dan 9 mempunyai jumlah antara 0-2% (Tabel 2). Pola 3 mirip

dengan pola 2 tetapi kotiledon berwarna merah cerah. Kotiledon pada pola 4 bergradasi merah-merah muda. Selain itu, ditemukan pula benih keras pada lot C sebanyak 14%.

Tabel 2. Jumlah benih pada setiap pola topografi pewarnaan tetrazolium

Pola	Lot A (%)	Lot B (%)	Lot C (%)
1	44	31	51
2	41	46	16
3	2	0	2
4	2	1	2
5	4	9	4
6	4	8	6
7	1	1	0
8	2	1	1
9	0	2	2
10	0	1	16

Beberapa kombinasi gabungan antar pola yang memberikan RMS kecil (dari 255 kombinasi) yaitu antara 6.455 – 7.789 adalah seperti dalam Tabel 3. Tiga pola dengan nilai RMS terkecil yaitu pola 1,2,3,4 (RMS = 6.455), pola 1,2,3,4,8 (RMS = 6.658) dan pola 1,2,3,4,7 (RMS = 6.856). Berdasarkan hasil perhitungan RMS dan analisis regresi serta korelasi, pola 1,2,3,4 adalah pola yang menunjukkan viabilitas

benih (Tabel 4). Apabila pola lain ditambahkan pada kombinasi tersebut atau salah satu dari pola 1,2,3 atau 4 dihilangkan, nilai RMS akan meningkat. Nilai RMS yang tinggi menunjukkan terdapat selisih yang tinggi antara jumlah benih *viable* dan jumlah kecambah normal yang menyebabkan kesalahan dalam penentuan viabilitas benih (Pant *et al.*, 1999).

Tabel 3. Nilai RMS untuk pola viabilitas pada topografi pewarnaan tetrazolium pola 1-8

Kombinasi pola berkemungkinan <i>viable</i>	RMS	Kombinasi pola berkemungkinan <i>viable</i>	RMS
1,2,3	7.118	1,2,3,8	6.976
1,2,4	7.234	1,2,3,4,7	6.856
1,2,7	7.141	1,2,3,4,8	6.658
1,2,3,4	6.455	1,2,3,7,8	7.348
1,2,3,7	7.348	1,2,5,7,8	7.439

Tabel 4. Hasil analisis regresi dan korelasi antara uji tetrazolium dan uji daya berkecambah pada tiga kombinasi pola dengan RMS terkecil

Kombinasi pola	a	b	R ²	r
1,2,3,4	39.112	0.5186	0.3731	0.6108
1,2,3,4,8	40.918	0.4866	0.3733	0.6110
1,2,3,4,7	43.361	0.4601	0.3219	0.5674

Keterangan : a : intersep, b : koefisien regresi, R² : koefisien determinasi, r : koefisien korelasi

Rata-rata persentase kecambah normal (DB) dan benih *viable* (TZ pada pola 1,2,3,4) berturut-turut pada lot A, B dan C adalah 85 dan 89%, 75 dan 78%, 81 dan 71%. Pada lot C jumlah kecambah normal lebih tinggi daripada jumlah benih *viable* dan mempunyai perbedaan yang tinggi (10%). Perbedaan yang tinggi ini diduga karena adanya benih keras sebanyak 8% pada uji DB, dan 14% pada uji TZ (data tidak ditampilkan).

Pada pola 5 terdapat bercak lunak merah tua di kotiledon dan pada pola 6 bercak tersebut menyebabkan jaringan mati sehingga tidak terwarnai. Pola 5 dan 6 ini menunjukkan kerusakan akibat serangan hama atau penyakit (Leist, 2004).

Pada pola 7 warna merah tua terbentuk pada tempat penempelan radikula di kotiledon. Menurut Moore (1972) kerusakan pada tempat penempelan radikula di kotiledon pada legum mengakibatkan turunnya kekuatan embrio dan viabilitasnya. Pola 7 ini hampir sama seperti pola 9, tetapi pada pola 9 bagian kotiledon yang berdekatan dengan radikula tidak terwarnai. Menurut Leist (2004), area kotiledon yang berdekatan dengan radikula adalah area penting, sehingga tidak terwarnainya daerah ini menunjukkan terjadinya kerusakan yang menyebabkan benih tidak dapat menjadi kecambah normal. Kotiledon yang berwarna merah tua seperti pada pola 8, menunjukkan benih yang berumur lebih tua, mengalami kerusakan

mekanis atau karena panas (AOSA, 2001) dan hal tersebut merupakan kerusakan yang kritikal (Moore, 1972).

Jumlah benih *viable* pada uji TZ dan kecambah normal pada uji DB akan sama (dalam batas toleransi) bila benih tidak dorman, bukan benih keras atau telah diberi perlakuan untuk mematahkan dormansi dan kekerasan benih, benih tidak terinfeksi patogen atau telah didesinfeksi, dan dikecambahkan pada kondisi optimum (ISTA, 2003; Leist, 2004). Pada penelitian ini terdapat benih keras dan infeksi patogen sehingga jumlah benih *viable* tidak sama dengan jumlah kecambah normal.

Pola Topografi Pewarnaan TZ untuk Tolok Ukur Vigor Benih Kedelai

Untuk menentukan pola topografi dan pewarnaan yang menunjukkan vigor dihitung nilai RMS antara pengujian vigor di laboratorium yaitu AA, IV, K_{CT} relatif dan LPK dengan hasil uji TZ. Hasil pengujian vigor laboratoris mampu menunjukkan perbedaan antar lot kecuali pengujian LPK (Tabel 5). Pengujian LPK tidak dapat membedakan ketiga lot benih yang digunakan oleh karena itu pengujian LPK tidak dianalisis lebih lanjut. Berat kering rata-rata setiap kecambah normal tidak berbeda pada DMRT 5%.

Tabel 5. Hasil pengujian untuk parameter vigor benih

Tolok Ukur	Lot A	Lot B	Lot C
Accelerated Ageing (%)	90 ^A	73 ^B	91 ^A
Indeks Vigor (%)	83 ^A	74 ^B	80 ^A
Kecepatan Tumbuh Relatif (%)	77.1 ^A	67.5 ^B	71.9 ^{AB}
Laju Pertumbuhan Kecambah (mg)	45.747 ^A	45.287 ^A	47.460 ^A

Keterangan : Huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

Beberapa kombinasi gabungan antar pola yang memberikan RMS kecil pada TZ-AA (11,165-14,341), TZ-IV (6,658-9,256) dan TZ-K_{CT} relatif (7,528-14,445) (Tabel 6). Kombinasi gabungan pola yang memberikan nilai R² dan r tertinggi pada AA, IV dan K_{CT} relatif berturut-turut adalah pola 1,2,3,4,8 (R²=0.1 r = 0.3), pola 1,2,3,4 (R²=0.4 r=0.6) dan pola 1,2,3 (R²=0.4 r=0.7) (Tabel 7).

Tabel 6. Nilai RMS untuk pola vigor pada topografi pewarnaan tetrazolium pola 1 - 8 berdasarkan pengujian vigor laboratoris

Kombinasi pola berkemungkinan vigor	Nilai RMS		
	AA	IV	K _{CT} relatif
1,2	14.341	7.789	7.528
1,2,3	13.026	6.976	7.958
1,2,7	14.341	8.042	8.287
1,2,3,4	11.916	6.658	9.037
1,2,3,6	11.561	8.367	12.832
1,2,3,8	12.477	7.118	9.092
1,2,3,4,6	11.165	9.256	14.201
1,2,3,4,8	11.518	7.141	10.279

Tabel 7. Hasil analisis regresi dan korelasi pola topografi vigor pada tiga kombinasi pola dengan RMS terkecil

Tolok Ukur	Pola vigor	a	b	R ²	r
TZ - AA	1,2,3,4,6	78.731	0.0720	0.0032	0.0565
	1,2,3,4,8	60.905	0.2968	0.0812	0.2849
	1,2,3,6	83.173	0.0201	0.0003	0.0167
TZ - IV	1,2,3,4	43.139	0.4488	0.3815	0.6176
	1,2,3	46.362	0.4164	0.3627	0.6022
	1,2,3,8	48.326	0.3837	0.3312	0.5755
TZ - K _{CT} relatif	1,2	32.572	0.5187	0.4045	0.6360
	1,2,3	29.153	0.5544	0.4394	0.6629
	1,2,7	33.222	0.4982	0.4230	0.6156

Keterangan : a : intersep, b : koefisien regresi, R² : koefisien determinasi, r : koefisien korelasi

Kombinasi gabungan pola 1,2,3 dan 1,2,3,4 diuji pada percobaan di *polybag* dan lahan terbuka dengan melihat hasil analisis regresi dan korelasi terhadap nilai DT hari ke-7 dan ke-14, DT total, tinggi tanaman, bobot brangkasan, bobot dan jumlah polong serta berat benih yang dihasilkan. Nilai DT hari ke-7 dan hari ke-14 tidak dapat membedakan lot benih (Tabel 8). Akan tetapi, DT total berbeda diantara ketiga lot tersebut (lot A 80%, lot B 84% dan lot C 91%) dan lebih tinggi dibandingkan nilai DT hari ke-14. Terdapat penambahan jumlah bibit yang tumbuh sebanyak 1% pada lot A dan B dan 5% pada lot C.

Tabel 8. Hasil pengujian vigor bibit dan tanaman di *polybag*

Tolok Ukur	Lot A	Lot B	Lot C
Daya Tumbuh hari ke-7 (%)	79 ^A	81 ^A	82 ^A
Daya Tumbuh hari ke-14 (%)	79 ^A	83 ^A	86 ^A
Daya Tumbuh Total (%)	80 ^B	84 ^B	91 ^A
Tinggi tanaman minggu II (cm)	17.08 ^B	18.5 ^B	24.33 ^A
Tinggi tanaman minggu III (cm)	23.68 ^B	25.50 ^B	31.99 ^A
Tinggi tanaman minggu IV (cm)	31.24 ^B	33.10 ^B	44.55 ^A
Umur Panen (HST)	89 ^A	90 ^A	79 ^B
Bobot brangkas per tanaman (g)	60.60 ^A	47.46 ^A	54.37 ^A
Jumlah polong per tanaman	47 ^A	39 ^A	44 ^A
Bobot polong per tanaman (g)	36.68 ^A	27.77 ^A	27.10 ^A
Produksi rata-rata (g)	257.99 ^A	245.79 ^A	237.29 ^A

Keterangan :
Huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%. Pengamatan dilakukan pada 10 tanaman secara acak pada tiap ulangan, kecuali pada Daya Tumbuh. Penanaman pada 21 September 2005 dan panen pada 9 – 19 Desember 2005. Daya tumbuh total, bobot brangkas, jumlah dan bobot polong diukur pada saat panen. Produksi rata-rata diukur setelah benih berkadar air 7,4-7,7%.

Hasil penelitian TeKrony dan Egli (1977) pada benih kedelai menunjukkan pengujian DB, AA dan persentase kecambah normal pada hari ke-4 berkorelasi dengan perkecambahan di lapangan (*field emergence*) (dihitung setelah benih mulai berkecambah hingga kotiledon muncul di atas permukaan tanah). Penelitian Kulik dan Yaklich (1982) menunjukkan pengujian AA, TZ dan *cold test* pada benih kedelai dapat mengestimasi potensi perkecambahan di lapangan (satu atau dua daun trifoliate telah muncul dan terbuka) dan total kecambah hidup pada AA, kecepatan tumbuh dan persentase kecambah pada hari ke-4 merupakan pengujian laboratorium yang dapat digunakan untuk menduga perkecambahan di lapangan.

Rendahnya hubungan antara TZ-AA diduga karena adanya benih keras. Penderaan pada pengujian AA menyebabkan turunnya jumlah benih keras dari 14% menjadi 2% (data tidak dicantumkan). Suhu dan RH tinggi menyebabkan pori-pori membran melebar sehingga memudahkan imbibisi uap air. Pada benih yang vigor, setelah imbibisi akan terjadi perbaikan membran sehingga benih tumbuh menjadi kecambah normal, sedangkan pada benih yang tidak vigor perbaikan tersebut tidak terjadi (Halmer and Bewley, 1984). Pelebaran pori-pori ini tidak terjadi pada pengujian TZ sehingga persentase benih keras tetap tinggi. Meskipun uji AA memiliki korelasi yang tinggi

dengan perkecambahan di lapangan (TeKrony and Egli,1977; Kulik and Yaklich, 1982), tetapi karena korelasi TZ-AA rendah, maka pola topografi yang diperoleh dari TZ-AA tidak memiliki korelasi yang tinggi dengan perkecambahan di lapangan. Bila diperoleh benih keras pada uji TZ, benih tersebut harus dilukai bagian kotiledonnya dan direndam kembali dalam larutan TZ (ISTA, 2003), sehingga dapat diketahui viabilitas benih keras tersebut.

Kulik dan Yaklich (1982) memberikan dua istilah yang berbeda untuk pendugaan perkecambahan di lapangan yaitu *estimating potential field emergence* (E) dan *predicting field emergence* (P). Pada E 80% berarti benih akan berkecambah 80% atau lebih pada kondisi tertentu seperti dalam laboratorium, sedangkan P 80% berarti benih akan berkecambah 80% atau lebih pada kondisi apapun. Pola 1,2,3,4 dan pola 1,2,3 memiliki korelasi yang tinggi dengan tolak ukur vigor bibit di *polybag* yang diamati yaitu DT hari ke-7 dan ke-14, DT total, tinggi tanaman minggu ke-2,3 dan 4, bobot brangkas, bobot dan jumlah polong per tanaman serta produksi benih. Pola 1,2,3,4 yang merupakan tolak ukur viabilitas, berkorelasi lebih erat dengan DT hari ke-7 dan ke-14 (perkecambahan di lapangan) sehingga dapat mengestimasi potensi pemunculan kecambah pada kondisi lapang yang mendekati kondisi optimum (Tabel 9 dan 10).

Tabel 9. Hasil analisis regresi dan korelasi pola topografi tetrazolium dengan daya tumbuh di *polybag*

Tolok Ukur Bibit	Lot	Pola 1,2,3,4 (Viabilitas)		Pola 1,2,3 (Vigor)	
		R ²	r	R ²	r
DT hari ke-7	A	0.8211	0.9061	0.6990	0.8361
	B	0.9560	0.9778	0.9294	0.9641
	C	0.9625	0.9811	0.8932	0.9541
DT hari ke-14	A	0.8211	0.9061	0.6990	0.8361
	B	0.9193	0.9588	0.9632	0.9814
	C	0.9625	0.9811	0.8932	0.9451
DT Total	A	0.9662	0.9830	0.8834	0.9399
	B	0.8783	0.9372	0.8783	0.9372
	C	0.8215	0.9064	0.9516	0.9755

Keterangan :
R² : koefisien determinasi, r : koefisien korelasi. DT hari ke-7 dan Ke-14 merupakan persentase kecambah dengan satu atau dua daun trifoliat telah membuka

Tabel 10. Hasil analisis regresi dan korelasi pola topografi viabilitas dan vigor dengan pertumbuhan tanaman di *polybag*

Tolok Ukur Bibit	Pola 1,2,3,4 (Viabilitas)		Pola 1,2,3 (Vigor)	
	R ²	r	R ²	r
Tinggi tanaman minggu ke-2	0.8828	0.9396	0.8647	0.9299
Tinggi tanaman minggu ke-3	0.7429	0.9193	0.7319	0.9015
Tinggi tanaman minggu ke-4	0.9191	0.9587	0.9646	0.9821
Bobot brangkasan	0.7933	0.8907	0.9101	0.9541
Bobot polong / tanaman	0.9044	0.9510	0.8863	0.9414
Jumlah polong / tanaman	0.9634	0.9815	0.8935	0.9425
Produksi benih	0.9298	0.9643	0.9530	0.9762

Keterangan : semua nilai ditranformasi ke Z baku

Pola 1,2,3 lebih erat hubungannya dengan tolak ukur DT total, tinggi tanaman pada minggu ke-4, bobot brangkasan dan jumlah benih yang dihasilkan. Hasil pengujian di lahan terbuka menunjukkan pola 1,2,3 berkorelasi erat dengan keseluruhan tolak ukur bibit yang diuji (Tabel 11).

Tabel 11. Hasil analisis regresi dan korelasi pola topografi viabilitas dan vigor dengan pertumbuhan tanaman di lahan terbuka

Tolok Ukur Bibit	1,2,3,4 (Viabilitas)		1,2,3 (Vigor)	
	R ²	r	R ²	r
DT Total	0.3539	0.5949	0.6464	0.8040
DT hari ke-7	0.5491	0.7410	0.7899	0.8888
DT hari ke-14	0.5902	0.3483	0.6161	0.7849
Tinggi tanaman minggu ke-2	0.9633*	0.9815*	0.9259*	0.9622*
Tinggi tanaman minggu ke-3	0.9081*	0.9529*	0.8686*	0.9320*
Tinggi tanaman minggu ke-4	0.8794*	0.9378*	0.9088*	0.9533*
Bobot brangkasan / tanaman	0.8740*	0.9349*	0.9521*	0.9758*
Jumlah polong / tanaman	0.8757*	0.9358*	0.8506*	0.9223*
Produksi rata-rata	0.9043*	0.9509*	0.9044*	0.9510*

Keterangan :
* nilai ditranformasi ke Z baku. Penanaman dilakukan pada 1 Pebruari 2006 dan dipanen pada 8-11 Mei 2006. Daya tumbuh total, bobot brangkasan, jumlah dan bobot polong diukur pada saat panen. Produksi rata-rata diukur setelah benih berkadar air 7%.

Terpilihnya pola 1,2,3 sebagai pola vigor sesuai dengan Leist (2004) bahwa benih dikotil bervigor tinggi bila seluruh bagian terwarnai atau hanya sebagian kecil bagian yang tidak terwarnai di bagian kotiledon yang berlawanan dengan radikula, dengan warna merah yang cerah dan merata, jaringan terlihat kuat dan bagian ujung radikula berwarna lebih tua dibandingkan kotiledon. .

Pada penelitian ini, tingkat vigor benih yang berbeda menghasilkan DT dan tinggi tanaman berbeda, tetapi tidak menyebabkan perbedaan produksi tanaman (Tabel 8). Hal ini sesuai dengan Kulik dan Yaklich (1982), tetapi Ilyas (1986) menunjukkan hanya tolok ukur kecepatan tumbuh berkorelasi paling erat dengan prositar dibandingkan DB, keserempakan tumbuh bibit, tinggi bibit, tinggi tanaman dan jumlah buku produktif.

KESIMPULAN

Diperoleh sepuluh pola topografi pada uji TZ. Pola 1,2,3,4 dan pola 1,2,3 pada pengujian TZ mempunyai korelasi yang tinggi dengan pertumbuhan tanaman dan hasil produksi. Pola 1,2,3,4 yaitu seluruh bagian benih berwarna merah atau bergradasi merah muda-merah dengan ujung poros embrio merah atau merah tua, menunjukkan benih *viable*, sedangkan pola yang lebih spesifik yaitu 1,2,3 dimana pewarnaan pada kotiledon terbentuk merata dan poros embrio berwarna merah dengan atau tanpa merah tua di ujung radikula dikategorikan sebagai pola vigor. Pola 1,2,3,4 dan pola 1,2,3 dapat digunakan untuk mengestimasi pertumbuhan tanaman, tetapi pola 1,2,3 sebagai pola vigor dapat mengestimasi lebih baik. Perlu dilakukan pengujian yang sama dengan menggunakan lot benih yang lebih banyak pada varietas yang sama atau varietas-varietas lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada BPMBTPH-Departemen Pertanian atas biaya dan fasilitas yang diberikan selama penulis melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOSA] Association of Seed Analyst. 2001. Tetrazolium Testing Handbook. Halaman : 17-18. www.ucs.iastate.edu (17 April 2005).
- Bradford, K.J. 2004. Seed Production and Quality. Halaman 107 – 111. www.kew.org/sid/viability/index/html (17 April 2005).
- Copeland, O.L., M.B. McDonald. 1995. Seed Science and Technology. New York : Chapman & Hall., 408 hal.
- Halmer, P., J.D. Bewley. 1984. A physiological perspective on seed vigour testing. J. Seed Sci. Tech. 12 : 561 – 575.
- Ilyas, S. 1986. Pengaruh faktor ‘induced’ dan ‘enforced’ terhadap vigor benih kedelai (*Glycine max* L.) dan hubungannya dengan produksi per hektar [tesis]. Bogor : Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- [ISTA] International Seed Testing Association. 2003. ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing. Volume I – Agricultural, Vegetable and Horticultural Species. Zurich : International Seed Testing Association.
- [ISTA] International Seed Testing Association. 2004. Seed Science and Technology. International Rules for Seed Testing. Zurich: International Seed Testing Association.
- Kulik, M.M., R.W. Yaklich. 1982. Evaluation of vigor tests in soybean seeds : relationship of accelerated aging, cold, sand bench, and speed of germination tests to field performance. Crop Sci. 22: 766-770.
- Kuo, W.H.J., A.C. Yan, N. Leist. 1996. Tetrazolium test for the seeds *Salvia splendens* and *S.farinacea*. J. Seed Sci. Tech. 24:17-21.
- Leist, N. 2004. Seed Vigour Determination by Means of the Topographical Tetrazolium Test. Makalah dalam ISTA Seed Quality Assesment Training Organised by APSA, Hanoi, Vietnam, 22-26 November 2004.
- McDonald, M.B. 1998. Seed quality assessment. J. Seed Sci. Res. 8 : 265 – 275.
- Moore, R.P. 1972. Effect of mechanical injuries on viability. In : Roberts EH, ed. Viability of Seeds. Chapman and Hall Ltd, London. Hal : 95 – 113
- Pant, N.C., M. Purohit, R.B. Lal. 1999. Tetrazolium test for the seeds of *Dendrocalanus strictus* Nees. J. Seed Sci. Tech. 27:907-910.
- TeKrony, D.M., D.B. Egli. 1977. Relationship between laboratory indices of soybean seed vigor and field performance. Crop Sci. 17: 573-577.